

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A) 平4-59779

⑫ Int. Cl.⁸

C 07 D 487/22
A 61 K 49/00

識別記号

庁内整理番号

C 7019-4C
8415-4C

⑬ 公開 平成4年(1992)2月26日

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全17頁)

⑭ 発明の名称 ポルフィリン誘導体とその用途

⑮ 特 願 平2-168499

⑯ 出 願 平2(1990)6月28日

⑰ 発 明 者	阪 田	功	岡山県笠岡市小平井1766番地の4
⑰ 発 明 者	中 島	進	北海道旭川市緑が丘五条4丁目4番地の34
⑰ 発 明 者	小 清 水	弘 一	奈良県奈良市法蓮山添西町856番地の10
⑰ 発 明 者	高 田	弘 之	岡山県浅口郡里庄町里見2098番地
⑰ 発 明 者	乾	裕 史	岡山県笠岡市笠岡2430番地
⑰ 出 願 人	東洋薄荷工業株式会社		岡山県浅口郡里庄町大字浜中75番地の1
⑰ 代 理 人	弁理士 高橋 三郎		

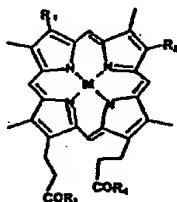
明 細 書

1. 発 明 の 名 称

ポルフィリン誘導体とその用途

2. 特 許 請 求 の 範 囲

1. 一般式(1)



(式中、R₁及びR₂はそれぞれ-CH=CH₂、
-CH(OR)CH₂、または-CH[O-(
低級アルキレン-O)。R]CH₂、

R₁及びR₂は-OHまたは多官能性化合物から
水素を除いた残基、

nは1~2、

Rは-H、アルキル、アルケニル、パーフルオロ
アルキル、環式化合物または多官能性化合物から
水素を除いた残基、

Mは金属)で示される金属ポルフィリン化合物、

2. 請求項1. 記載の金属ポルフィリン化合
物(1)からなる核磁気共鳴造影剤、

3. 経のイメージングに使用される請求項2
記載の核磁気共鳴造影剤、

3. 発 明 の 詳 細 な 説 明

(イ) 産業上の利用分野

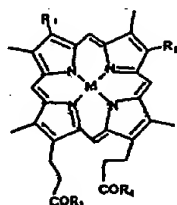
本発明は、ポルフィリン誘導体とその用途、
に金属ポルフィリン誘導体を有効成分とする核磁
気共鳴造影剤および/または核磁気共鳴による
癌の診断剤に関する。

(ロ) 従来の技術

従来から、ポルフィリン誘導体が癌組織に対し
て、選択的な集積性を有することはよく知られて
いる。しかしながら、癌組織に対する選択性もま
だ充分でない。一方、ポルフィリン誘導体は光に
よって毒性を発揮するため、これを人体に投与し
た場合、患者は正常組織に集まったポルフィリン
誘導体が体外に排出されるまで長時間にわたって
暗所にとどまることが必要となる。

また、癌を抽出する核磁気共鳴診断用(MRI)造影剤の開発は、医療分野における近年のテーマの一つである。現在臨床的にはガドリニウム-ジエチレントリアミン五酢酸(Gd-DTPA)が唯一の造影剤として用いられている。しかしながらこの造影剤は体内での分布に組織特異性がなく、ほとんどが細胞外液に分布し、腎臓から直ちに体外へ排泄されてしまうため応用範囲は限られている。そこで組織特異的に分布する造影剤の開発が望まれていた。

核磁気共鳴イメージング(MRI)用造影剤としては常磁性金属のMnやFeが考えられる。PhillipsらがMn-ナトラ(4-スルホナトフェニル)ポルフィリン(Mn-TPPS)を合成しMRI効果を発表している[Cancer Research 45, 4804 (1985)]。そしてこの造影剤についてLyon, Patronasらも報告[Magnetic Resonance in Medicine, 4, 24 (1987), Cancer Treatment Reports, 20, 391 (1986)]し、特開平1-275583号にも開示されているが、この



(式中、R₁及びR₂はそれぞれ-CH=CH₂、-CH(OR)CH₂、または-CH[O-(低級アルキレン-O)]_nCH₂、

R₃及びR₄は-OHまたは多官能性化合物から水素を除いた残基、

nは1~2、

Rは-H、アルキル、アルケニル、パーフルオロアルキル、環式化合物または多官能性化合物から水素を除いた残基、

Mは金属)で示される金属ポルフィリン化合物に存する。

上記各記号の意味に関して使用された「低級アルキレン」なる語は炭素数5以下、好ましくは炭素数1~3のアルキレン(例えばエチレン、トリ

TPPS誘導体は毒性が強く、癌組織選択性もなく、また投与量も100mg/kg体重以上と多量必要とするため実用化が困難である。

(ハ) 発明が解決しようとする問題点

本発明者らは、癌組織に対する良好な集積性を維持したまま光毒性を低減させたポルフィリン誘導体を探索し、癌のイメージングに適したMRI造影剤を提供することを目的として、種々の研究を重ねた。

(ニ) 問題を解決するための手段

その結果、前記誘導体【特開平1-148615号、米国出願375482号(1989)、欧州出願89112955、3号(1989)】の中で多官能性基を有する特定の側鎖を結合させたある種の金属ポルフィリン誘導体が、癌組織に対して優れた集積性と同時に低減された光毒性を有し、かつ良好なMRI造影効果を有することを見出した。

本発明は上記の知見に基づいて完成されたものであって、その要旨は式(1)

メチレン、プロピレン等)を意味し、「アルキル」なる語は炭素数20以下、好ましくは炭素数1~18のアルキル(例えばメチル、エチル、n-プロピル、ヘキシル、オクチル、デシル、ジヒドロシトロネリル、ウンデシル、ドデシル、テトラデシル、オクタデシル等)を意味し、「アルケニル」なる語は炭素数20以下、好ましくは炭素数6~18のアルケニル(例えばヘキセニル、オクテニル、デカニル、シトロネリル、オクタデセニル等)を意味する。

「パーフルオロアルキル」なる語は炭素数20以下、好ましくは炭素数2~11のパーフルオロアルキル(例えばヘキサフルオロプロピル、オクタフルオロベンチル、ドデカフルオロヘプチル、ペンタデカフルオロオクチル等)を意味し、「環式化合物」なる語は7員環以下の環式化合物(例えばシクロヘキシル、メンチル等)を意味する。

「多官能性化合物」なる語は少なくとも2個の官能基(例えば-NH₂、-OH、-O-、-SH、-S-、-COOH、-CN、ハロゲン等)

を有するものを示し、好ましくはアミノ酸類（例えばグリレン、シスチン、グルタミン酸、アラニン、シスチン、アスパラギン酸、アスパラギン、バリン、メチオニン、グルタミン、ロイシン、フェニルアラニン、イソロイシン、セリン、トリプトファン、スレオニン、ヒスチジン、リジン、チロシン等）、ポリアミン類（例えばエチレンジアミン、ヘキサメチレンジアミン、ヒドラジン、テトラエチレンペンタミン等）、多価アルコール類（エチレングリコール、ジエチレングリコール、メチルセロソルブ、エチルセロソルブ、カルビトール、グリセリン等）、複素環式アルコール類（例えばテトラヒドロフルフリルアルコール、テトラヒドロピラン-2-メタノール、3-ピリジン-メタノール等）、アミノアルコール類（例えばモノエタノールアミン、ジメチルアミノエタノール、ヒドロキシアミン、ヒドラジノエタノール等）、シアノアルコール類（例えばエチレンジアンヒドリン）、含硫アルコール類（例えばメチオノール等）、ハロゲンアルコール類（例えばモノ

ブロモエタノール、トリクロロアルコール等）、フェニチルアルコール、タウリン、ヒドロキシ酢酸等が使用されてよい。なお、これらの中には光学活性を持つ物質もあるが、その際にはL体、D体、DL体のどれを使用してもよいし、また合成反応中にDL体に変化したものでもよい。またこれらはアルカリ金属塩の形で使用されてもよい。

本発明の金属ポルフィリン化合物(I)は、自体常態によって製造することができる。通常は、まず式(I)に対応するポルフィリン化合物であって、R、およびR'を有するものを構成し(工程a)、ついでこれに金属を導入し(工程b)、得られた金属ポルフィリン化合物のR、およびR'に多官能性化合物(例えばアミノ酸等)の残基を結合せしめる(工程c)。また必ずしも工程(a)、(b)、(c)と順次反応せしめる必要もなく、例えば工程(b)、(a)、(c)または工程(a)、(c)、(b)のように工程順が代わってもよい。

構成工程(aおよびb)はJ. E. Falk著

[Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier 発行、1975年)等に記載された常態の方法によってこれを行うことが出来る。例えば式(I)に対応するR、およびR'を有する金属ポルフィリン化合物であるものは、特開昭61-7279号、特開昭61-83185号や特許公報昭63-13997号および特開平1-146815号に記載された方法に従ってこれを調製すればよい。すなわち工程(a)についてはポルフィリン化合物(I)のR、およびR'側鎖にRを導入すればよいから、多官能性化合物はその水酸基について反応させてもよく、それ以外の官能基(例えばアミノ基)について反応させてもよい。例えば水酸基を有する多官能性化合物を使用する場合にはあらかじめポルフィリン化合物(I)のBr誘導体を調製し、これと多官能性化合物の水酸基との間で反応を進行させることが好ましく、このため多官能性化合物の他の官能基を適宜に保護することが行われてもよい。工程(b)については通常、金属の塩化物、酢酸塩、硫酸塩、硝酸塩等を使

用してこれを行う。金属の種類としては、V、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Rh、Pdなどがあげられる。またこの金属導入工程(b)は(a)工程の前後を問わず、必要に応じ調整して良い。例えば、先ず金属導入工程(b)を行い、ついで金属ポルフィリン化合物のBr誘導体を調製し、これと官能性化合物との間で反応(工程a)を進行させても何ら問題はない。人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

このようにして構成した金属ポルフィリン化合物を次に多官能性化合物の残基の結合工程(c)に付す。すなわち、R、およびR'の少なくとも一つが水酸基である金属ポルフィリン化合物(I)に多官能性化合物(主としてアミノ酸、ポリアミンおよびアミノアルコール類等)を反応させて、R、およびR'の少なくとも一つが多官能性化合物担持金属ポルフィリン化合物(I)を製造する。このものは泉重ら著[ペプチド合成の基礎と実験](丸善発行、1966年)等に記載された

常法の方法によってこれを行うことができ、特開昭64-61481号および特開平1-146615号に記載された方法に従ってこれを調製すればよい。人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

この場合は金属ポルフィリン化合物(1)の側鎖に多官能性化合物の残基を導入すればよいから、多官能性化合物はそのアミノ基について反応させてもよく、それ以外の官能基(例えば水酸基)について反応させてもよい。例えばアミノ基を有する多官能性化合物を使用する場合には一般に金属ポルフィリン化合物(1)のR₁およびR₂側鎖のカルボキシル基と多官能性化合物のアミノ基との間で反応を進行させることが好ましく、このため前者のカルボキシル基または/および後者のアミノ基を常套の反応性基に変換したり、両者に存在する反応に関与することが好ましくない官能基を適宜に保護することが考慮されてよい。なおいずれの場合も適宜脱水剤や脱酸剤のような反

応促進剤や縮合剤の使用も考慮されてよい。

以下、代表例を挙げて金属ポルフィリン化合物(1)の調製を更に具体的に説明する。例えば、多官能性化合物がアミノ基担持の場合には、先ずR₁およびR₂の少なくとも一つが水酸基を持った金属ポルフィリン化合物(特開昭61-7278号、昭61-83185号、特許公報昭63-13997号または特開平1-146615号)にアミノ基担持多官能性化合物(例えばアミノ酸メチルエステル等)を溶液中で縮合剤[例えばジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)や水溶性カルボジイミド(WSC)]等を用いて反応せしめて、R₁およびR₂の側鎖に少なくとも一つのアミド基担持多官能性化合物が結合した金属ポルフィリン化合物(1)を得る。その具体例としては以下のものを挙げる事が出来る。

(1) Mn-プロトポルフィリン

(以下Mn-PPと言う)

(2) Mn-ヘマトポルフィリン

(以下Mn-HPと言う)

(3) Mn-プロトポルフィニル モノチロシン

(以下Mn-PP-monoTyrと言う)

(4) Mn-プロトポルフィニル ジチロシン

(以下Mn-PP-diTyrと言う)

(5) 2,4-ビス(1-メトオキシエチル)-Mn-デューテロポルフィリン(以下C₁-Mn-DPと言う)

(6) 2,4-ビス(1-メトオキシエチル)-Mn-デューテロポルフィニル ジ6-アミノカブロン酸(以下C₁-Mn-DP-di6ACと言う)

(7) 2,4-ビス(1-エトオキシエチル)-Mn-デューテロポルフィリン(以下C₂-Mn-DPと言う)

(8) 2,4-ビス[1-(2-シアノエチルオキシ)エチル]-Mn-デューテロポルフィリン(以下CN-Mn-DPと言う)

(9) 2,4-ビス[1-(2-シアノエチルオキシ)エチル]-Mn-デューテロポルフィニル

ジアスバラギン酸(以下CN-Mn-DP-diAspと言う)

(10) 2-[1-(2-ヒドロオキシエチルオキシ)エチル]-4-エタニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下monoEG-Mn-DPと言う)

(11) 2-[1-(2-ヒドロオキシエチルオキシ)エチル]-4-エタニル-Mn-デューテロポルフィニル モノグリシン(以下monoEG-Mn-DP-monoGlyと言う)

(12) 2-[1-(2-ヒドロオキシエチルオキシ)エチル]-4-エタニル-Mn-デューテロポルフィニル ジグリシン(以下monoEG-Mn-DP-diGlyと言う)

(13) 2-[1-(2-ヒドロオキシエチルオキシ)エチル]-4-エタニル-Mn-デューテロポルフィニル ジアスバラギン酸(以下monoEG-Mn-DP-diAspと言う)

(14) 2-[1-(2-ヒドロオキシエチルオキシ)エチル]-4-エタニル-Mn-デューテロ

ボルフィニル ジフェニルアラニン (以下 $\text{monoEG-Mn-DP-diPhe}$ とする)

(15) 2- [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - 4-エタニル - Mn-デューテロボルフィニル ジチロシン (以下 $\text{monoEG-Mn-DP-diTyr}$ とする)

(16) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィリン (以下 EG-Mn-DP とする)

(17) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル モノグリシン (以下 EG-Mn-DP-monoGly とする)

(18) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジグリシン (以下 EG-Mn-DP-diGly とする)

(19) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル モノセリン (以下 EG-Mn-DP-

DP-diPhe とする)

(25) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル モノチロシン (以下 EG-Mn-DP-monoTyr とする)

(26) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジチロシン (以下 EG-Mn-DP-diTyr とする)

(27) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカブロン酸 (以下 EG-Mn-DP-6diAC とする)

(28) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカプロイル ジアスバラギン酸 (以下 $\text{EG-Mn-DP-di6AC-diAsp}$ とする)

(29) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフ

monoSer とする)

(30) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジセリン (以下 EG-Mn-DP-diSer とする)

(31) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル モノアスバラギン酸 (以下 EG-Mn-DP-monoAsp とする)

(32) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下 EG-Mn-DP-diAsp とする)

(33) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル モノフェニルアラニン (以下 EG-Mn-DP-monoPhe とする)

(34) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジフェニルアラニン (以下 EG-Mn-

DP-diTXA とする)

(35) 2, 4-ビス [1- (2- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィリン (以下 DEG-Mn-DP とする)

(36) 2, 4-ビス [1- (2- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下 DEG-Mn-DP-diAsp とする)

(37) 2, 4-ビス [1- (2- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカブロン酸 (以下 DEG-Mn-DP-di6AC とする)

(38) 2, 4-ビス [1- (2- (2-ヒドロキシエチルオキシ) エチルオキシ) エチル] - Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカプロイル ジアスバラギン酸 (以下 $\text{DEG-Mn-DP-di6AC-diAsp}$ とする)

(34) 2, 4-ビス[1-(2, 3-ジヒドロオキシプロピルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィリン(以下G.-Mn-DPと書く)

(35) 2, 4-ビス[1-(2, 3-ジヒドロオキシプロピルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下G.-Mn-DP-diaspと書く)

(36) 2, 4-ビス[1-(2, 3-ジヒドロオキシプロピルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカブロン酸(以下G.-Mn-DP-diasacと書く)

(37) 2, 4-ビス[1-(2, 3-ジヒドロオキシプロピルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカブロイル ジアスバラギン酸(以下G.-Mn-DP-diasac-diaspと書く)

(38) 2, 4-ビス(1-プロポキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(39) 2, 4-ビス(1-ブトキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(40) 2-(1-フェネチルオキシエチル)-4-エタニル-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(41) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジグリシン(以下C.-Mn-DP-diglyと書く)

(42) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアラニン(以下C.-Mn-DP-dialaと書く)

(43) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジロイシン(以下C.-Mn-DP-diluと書く)

(44) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジセリン(以下C.-Mn-DP-diserと書く)

(45) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジシステイン(以下C.-Mn-DP-dicysと書く)

Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(46) 2, 4-ビス(1-ペンチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(47) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(48) 2, 4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジグリシン(以下C.-Mn-DP-diglyと書く)

(49) 2, 4-ビス(1-オクチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(50) 2, 4-ビス(1-フェネチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(51) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-diaspと書く)

(52) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジ-D-アスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-di[D]aspと書く)

(53) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジグルタミン酸(以下C.-Mn-DP-digluと書く)

(54) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジフェニルアラニン(以下C.-Mn-DP-dipheと書く)

(55) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジグリシルジアスバラギン酸(以下C.-Mn-DP-digly-diaspと書く)

(56) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジロイシルジ

アスパラギン酸 (以下 $C_{10}-Mn-DP-diLeu-diAsp$ と言う)

(57) 2, 4-ビス (1-デシルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジフェニルアラニルジアスパラギン酸 (以下 $C_{10}-Mn-DP-diPhe-diAsp$ と言う)

(58) 2 - (1-デシルオキシエチル) - 4-エタニル - Mn -デューテロボルフィニル ジロイシン (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diLeu$ と言う)

(59) 2 - (1-デシルオキシエチル) - 4-エタニル - Mn -デューテロボルフィニル ジグルタミン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diGlu$ と言う)

(60) 2, 4-ビス (1-グラニルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィリン (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP$ と言う)

(61) 2, 4-ビス (1-グラニルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラ

(67) 2 - (1-ジヒドロシトロネリルオキシエチル) - 4-エタニル - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(68) 2, 4-ビス (1-メンチルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィリン (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP$ と言う)

(69) 2, 4-ビス (1-メンチルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(70) 2 - (1-メンチルオキシエチル) - 4-エタニル - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(71) 2, 4-ビス (1-ウンデシルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{11}-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(72) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル

ギン酸 (以下 $C_{12}(.....)-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(82) 2, 4-ビス (1-シトロネリルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィリン (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP$ と言う)

(83) 2, 4-ビス (1-シトロネリルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル モノアスパラギン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-monoAsp$ と言う)

(84) 2, 4-ビス (1-シトロネリルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(85) 2, 4-ビス (1-ジヒドロシトロネリルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィリン (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP$ と言う)

(86) 2, 4-ビス (1-ジヒドロシトロネリルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{10}(.....)-Mn-DP-diAsp$ と言う)

) - Mn -デューテロボルフィニル ジグリシン (以下 $C_{10}-Mn-DP-diGly$ と言う)

(73) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{12}-Mn-DP-diAsp$ と言う)

(74) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジグルタミン酸 (以下 $C_{12}-Mn-DP-diGlu$ と言う)

(75) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパルチルテトラグリシン (以下 $C_{12}-Mn-DP-diAsp-tetraGly$ と言う)

(76) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル) - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパルチルテトラアスパラギン酸 (以下 $C_{12}-Mn-DP-diAsp-tetraAsp$ と言う)

(77) 2 - (1-ドデシルオキシエチル) - 4-エタニル - Mn -デューテロボルフィニル ジアスパラギン酸 (以下 $C_{12}(.....)-Mn-DP-di$

Aspと書く)

(78) 2, 4-ビス(1-トリデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C₁₃-Mn-DP-diAspと書く)

(79) 2, 4-ビス(1-テトラデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C₁₄-Mn-DP-diAspと書く)

(80) 2, 4-ビス(1-テトラデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバルチルテトラアスバラギン酸(以下C₁₄-Mn-DP-diAsp-tetra Aspと書く)

(81) 2, 4-ビス(1-ファルネシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィリン(以下C₁₅(farnesyl)-Mn-DPと書く)

(82) 2, 4-ビス(1-ファルネシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C₁₅(farnesyl)-Mn-DP-diAspと書く)

C₁₆(squalyl)-Mn-DPと書く)

(83) 2, 4-ビス(1-オクタデセニルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C₁₆(squalyl)-Mn-DP-diAspと書く)

(84) 2, 4-ビス(1-オクタデセニルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバルチルテトラアスバラギン酸(以下C₁₆(squalyl)-Mn-DP-diAsp-tetra Aspと書く)

(85) 2, 4-ビス(1-フィチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィリン(以下C₁₇(fityl)-Mn-DPと書く)

(86) 2, 4-ビス(1-テトラヒドロフルフリルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィリン(以下 α -F₄-Mn-DPと書く)

(87) 2, 4-ビス(1-テトラヒドロフルフリルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下 α -F₄-Mn-DP-diAspと書く)

(88) 2, 4-ビス(1-ファルネシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジ6-アミノカプロイル ジアスバラギン酸(以下C₁₅(farnesyl)-Mn-DP-di6AC-diAspと書く)

(89) 2, 4-ビス(1-ファルネシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジ12-アミノドデカノイル ジアスバラギン酸(以下C₁₅(farnesyl)-Mn-DP-di12AD-diAspと書く)

(90) 2, 4-ビス(1-ヘキサデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下C₁₆-Mn-DP-diAspと書く)

(91) 2, 4-ビス(1-オクタデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバルチルテトラアスバラギン酸(以下C₁₆-Mn-DP-diAsp-Tetra Aspと書く)

(92) 2, 4-ビス(1-オクタデセニルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィリン(以下

(93) 2, 4-ビス[1-(テトラヒドロ-2-ピランメチルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィリン(以下 α -Pyran-Mn-DPと書く)

(94) 2, 4-ビス[1-(テトラヒドロ-2-ピランメチルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下 α -Pyran-Mn-DP-diAspと書く)

(95) 2, 4-ビス(1-ニコチニルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィリン(以下Nct-Mn-DPと書く)

(96) 2, 4-ビス(1-ニコチニルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸(以下Nct-Mn-DP-diAspと書く)

(97) 2, 4-ビス[1-(2-メチルチオプロピルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボルフィリン(以下Msp-Mn-DPと書く)

(98) 2, 4-ビス[1-(2-メチルチオプロピルオキシ)エチル]-Mn-デューテロボル

イニル ジアスバラギン酸 (以下Masp-Mn-DP-diaspと言う)

(99) 2, 4-ビス (1-オクタフルオロベンチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィリン (以下C₁₈iso-Mn-DPと言う)

(100) 2, 4-ビス (1-オクタフルオロベンチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジグリレン (以下C₁₈iso-Mn-DP-diGluと言う)

(101) 2- (1-オクタフルオロベンチルオキシエチル)-4-エタニル-Mn-デューテロボルフィニル ジグリシン (以下C₁₈iso-Mn-DP-diGluと言う)

(102) 2, 4-ビス (1-オクタフルオロベンチルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈iso-Mn-DP-diaspと言う)

(103) 2- (1-オクタフルオロベンチルオキシエチル)-4-エタニル-Mn-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈iso-

(106) Fe-プロトボルフィニル ジグリシン (以下Fe-PP-diGluと言う)

(109) 2- [1- (2-ヒドロオキシエチルオキシ) エチル]-4-エタニル-Fe-デューテロボルフィリン (以下monoEG-Fe-DPと言う)

(110) 2- [1- (2-ヒドロオキシエチルオキシ) エチル]-4-エタニル-Fe-デューテロボルフィニル ジグリシン (以下monoEG-Fe-DP-diGluと言う)

(111) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロオキシエチルオキシ) エチル]-Fe-デューテロボルフィニル モノアスバラギン酸 (以下EG-Fe-DP-monoAaspと言う)

(112) 2, 4-ビス [1- (2-ヒドロオキシエチルオキシ) エチル]-Fe-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下EG-Fe-DP-diaspと言う)

(113) 2, 4-ビス (1-ヘキシルオキシエチル)-Fe-デューテロボルフィニル ジアスバラ

Mn-DP-diaspと言う)

(104) 2, 4-ビス (1-グラニルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジ (ポートリフルオロメチル) フェニルアラニルジグルタミン酸 (以下C₁₈iso-Mn-DP-diPhe₁₈iso-diGluと言う)

(105) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジ (ポートリフルオロメチル) フェニルアラニン (以下C₁₈-Mn-DP-diPhe₁₈isoと言う)

(106) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル)-Mn-デューテロボルフィニル ジ (ポートリフルオロメチル) フェニルアラニルジグルタミン酸 (以下C₁₈-Mn-DP-diPhe₁₈iso-diGluと言う)

(107) 2- (1-ドデシルオキシエチル)-4-エタニル-Mn-デューテロボルフィニル ジ (ポートリフルオロメチル) フェニルアラニン (以下C₁₈iso-Mn-DP-diPhe₁₈isoと言う)

ギン酸 (以下C₁₈-Fe-DP-diaspと言う)

(114) 2, 4-ビス (1-オクチルオキシエチル)-Fe-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈-Fe-DP-diaspと言う)

(115) 2, 4-ビス (1-デシルオキシエチル)-Fe-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈-Fe-DP-diaspと言う)

(116) 2, 4-ビス (1-ドデシルオキシエチル)-Fe-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈-Fe-DP-diaspと言う)

(117) 2- (1-ドデシルオキシエチル)-4-エタニル-Fe-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈iso-Mn-DP-diaspと言う)

(118) 2, 4-ビス (1-ヘキシルオキシエチル)-Co-デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸 (以下C₁₈-Co-DP-diaspと言う)

)
 (119) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)
 -Co-デューテロボルフィニル ジアスバラギ
 ン酸(以下C₁₀-Co-DP-diaspと言う)
 (120) 2, 4-ビス(1-ドデシルオキシエチル)
 -Co-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₁₂-Co-DP-diaspと言う)
)

(121) Cu-プロトボルフィニル モノセリン(
 以下Cu-PP-monoSerと言う)

(122) 2-[1-(2-ヒドロオキシエチルオキ
 シ)エチル]-4-エチル-Cu-デューテロ
 ボルフィリン(以下monoEG-Cu-DPと言う)
)

(123) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -Cu-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-Cu-DP-diaspと言う)
)

(124) 2, 4-ビス(1-オクタシルオキシエチル)
 -Cu-デューテロボルフィニル ジアスバラ

)
 (130) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -Vo-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-Vo-DP-diaspと言う)
)

(131) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -Ga-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-Ga-DP-diaspと言う)
)

(132) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -In-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-In-DP-diaspと言う)
)

(133) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -デューテロボルフィニル ジアスバラギン酸
 (以下C₆-DP-diaspと言う)

本発明による金属ボルフィリン錯体(I)の
 医薬品製剤の製造は自公知法により行われ、本
 発明による(I)を適当な緩衝液で溶解するだけ
 でよい。好適な添加物は例えば医薬的に認可で

ギン酸(以下C₆-Cu-DP-diaspと言う)
)

(125) 2, 4-ビス(1-デシルオキシエチル)
 -Cu-デューテロボルフィニル ジアスバラギ
 ン酸(以下C₁₀-Cu-DP-diaspと言う)

(126) 2, 4-ビス(1-ドデシルオキシエチル)
 -Cu-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₁₂-Cu-DP-diaspと言う)
)

(127) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -Ni-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-Ni-DP-diaspと言う)
)

(128) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -Rh-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-Rh-DP-diaspと言う)
)

(129) 2, 4-ビス(1-ヘキシルオキシエチル)
 -Pd-デューテロボルフィニル ジアスバラ
 ギン酸(以下C₆-Pd-DP-diaspと言う)

きる溶解補助剤(例えば有機溶媒)、pH調整剤
 (例えば酸、塩基、緩衝液)、安定剤(例えばア
 スコルビン酸)、賦形剤(例えばグルコース)、
 等張化剤(例えば塩化ナトリウム)などが配合さ
 れても良い。

本発明による薬剤はMRI造影剤としての必要
 十分な特性すなわちT₁緩和時間の短縮、腫瘍に
 対する特異的集積性、無光毒性、水溶性などを充
 分満足しているものである。

本発明による薬剤の良好な水溶性は、高濃度溶
 液(100mg/ml)の製造を可能とし、更に
 本発明による薬剤は試験管内だけでなく生体内で
 も高い安定性を示す。

一般に、MRI造影剤として適用するためには
 本発明の薬剤を5mg~50mg/kg体重の量
 で投与するのが望ましい。

また本発明の金属ボルフィリン化合物(I)は
 誘導体の種類によって腫瘍組織および個々の他の
 器官、例えば肝臓、腸ならびに腎臓等も別々に
 MRI造影することが出来る。

(ホ) 作用

本発明にかかる金属ポルフィリン化合物(1)は、ポルフィリン骨格の側鎖に少なくとも1つの多官能性化合物残基を有する点に化学構造上の特徴を有し、その結果種々の生理学的もしくは薬理学的特性を発揮する。

これらポルフィリン誘導体は癌細胞に選択的に集積し、かつ癌細胞からの排泄が遅い。なる、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄されるため、それらに損傷を与えることはない。元来、ポルフィリン誘導体の殆どどのものは光に対して強い作用を有するが、本発明に従って金属ポルフィリン誘導体の側鎖に多官能性化合物残基を導入することによって正常組織からの排泄性を高めるとともに、光毒性の発現を強力抑制するようデザインした誘導体が可能となった。また、金属ポルフィリンの金属を常磁性金属とし常磁性金属ポルフィリン誘導体とすることによってT₁緩和時間の短縮をはかることができた。これらの特性(蓄積性、無光毒性、T₁緩和時間の短縮)に基づき、本

次いでメタノール28mlに溶解した酢酸マンガンの水和物10.2gを加え3時間還流した(マンガンの導入)。

反応後、反応液を減圧濃縮し、残渣を2N KOH/EtOH 60mlを加えて加水分解を行った(エステルのケン化)。

1N HClで中和後、一昼夜冷蔵庫で静置すると暗赤褐色の沈殿が生成した。沈殿物を濾取し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し(洗脱液:酢酸エチル-メタノール混液)にて精製して、2,4-ビス(1-ドデシルオキシエチル)-デューテロポルフィリンのマンガンの錯体を得た(1.1g)。

得られた錯体全量を常法によりジシクロヘキシルアミン(DCHA)でDCHA塩とした。

本DCHA塩全量をクロロホルム18mlおよびアセトニトリル9mlを加えて溶解した。次いでアスパラギン酸ジメチルエステル[Asp(OMe)]塩酸塩1.1gを加え、攪拌下にWSCD.8gを徐々に加えて2時間反応せしめ

発明の金属ポルフィリン誘導体は特定の臓器、特に癌や悪性腫瘍に対するMRI診断剤として有用である。

(ヘ) 実施例

次に実施例を挙げて本発明をさらに詳しく説明する。

実施例 1

金属ポルフィリン化合物(1)の合成

特願H1-146815号に掲げた方法により合成した。

出発原料としてプロトポルフィリンジメチルエステル3gを用い、これに10% HBr/HOAc 30mlを加え一昼夜攪拌した。続いて反応液を減圧濃縮し、残渣にアルコール類(例えばドデシルアルコール C₁₂H₂₅OH)18mlを加えて、室温下、一昼夜攪拌反応した(ポルフィリン誘導体へのアルコール残基の導入)。水を加えて暗赤色沈殿物を生成せしめ濾取した(2.8g)。

得られた沈殿物をメタノール36mlに溶解し

た。反応後、反応液を水洗、分液後クロロホルム層を濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再結晶化を行い、2,4-ビス(1-ドデシルオキシエチル)-Mn-デューテロポルフィニル ジアスパラギン酸ジメチルエステル(1.2g)を得た。

得られたアミド体全量を常法により、KOH/EtOHで加水分解を行い目的物の粗結晶を得た。次いで、この粗結晶をオクタシルシリカゲル

(C.)中圧高速分取液体クロマトグラフィー[洗脱液:MeOH-H₂O(9:1)]にて精製を行い、2,4-ビス(1-ドデシルオキシエチル)-Mn-デューテロポルフィニル ジアスパラギン酸[C₁₂-Mn-DP-diAsp(73)]を得た(0.68g、全収率10.7%)。

実施例 2

C₁₂-Mn-DP-diAsp(51)の質量分析

C₁₂-Mn-DP-diAsp

(子式: $C_{10}H_{10}N_2O_2Mn$ 、分子式量: 1.196.58) を二次イオン質量分析法にて本品の質量を測定した。その結果、 $m/z = 1.161, 1.183$ および 1.205 にピークを認め、各々 $[MH-2H_2O]^+$ 、 $[M-2H_2O+Na]^+$ および $[M-H-2H_2O+2Na]^+$ であり目的物であることが確かめられた。 $C_{10}-Mn-DP-diAsp(51)$ の二次イオン質量分析のスペクトルを図2に示す。

実施例 3

各薬剤の *in vitro* における T_1 、緩和時間の測定および緩和度の算出

各誘導体は $1/15M$ リン酸緩衝液 (pH 8.0) に溶解し、溶液の濃度を約 $0.09mM$ 、 $0.18mM$ 、 $0.9mM$ 濃度とし T_1 、緩和時間の測定を行った。測定は以下の条件で行った。

測定装置: JEOL FSE-50C

磁場強度: 1.4T

共振周波数: 60MHz

測定法: Saturation Recovery

表 1

化合物名	T_1	$1/T_1$	緩和度
(39) $C_6-Mn-DP-diAsp$	0.685	1.459	10.9
(41) $C_6-Mn-DP-diAsp$	0.781	1.280	9.6
(44) $C_{10}(trans)-Mn-DP-diAsp$	0.718	1.393	11.2
(45) $C_{10}-Mn-DP-diGly$	1.043	0.959	6.1
(51) $C_{10}-Mn-DP-diAsp$	1.028	0.975	6.8
(53) $C_{10}-Mn-DP-diGlu$	1.243	0.805	4.9
(51) $C_{10}(trans)-Mn-DP-diAsp$	1.040	0.962	6.7
(73) $C_{10}-Mn-DP-diAsp$	1.224	0.817	5.3
(82) $C_{10}(trans)-Mn-DP-diAsp$	0.965	1.036	8.5
(83) $C_{10}(trans)-Mn-DP-diGAC-diAsp$	1.060	0.943	8.5
(84) $C_{10}(trans)-Mn-DP-diIZAC-diAsp$	1.240	0.806	7.0
(85) $C_{10}(trans)-Mn-DP-diAsp$	1.350	0.741	4.8
(113) $C_6-Fe-DP-diAsp$	1.687	0.600	2.2
(118) $C_6-Co-DP-diAsp$	2.024	0.494	1.0
(123) $C_6-Co-DP-diAsp$	1.964	0.509	1.2
(127) $C_6-Ni-DP-diAsp$	1.874	0.507	1.1
(131) $C_6-Ga-DP-diAsp$	1.958	0.511	1.2
(132) $C_6-In-DP-diAsp$	2.037	0.491	1.0
(133) $C_6-BP-diAsp$	2.022	0.495	0.9
7777 1/15M リン酸緩衝液	2.509	0.40	

ペトリ皿 (3.5cm) に入れ2日間培養した。各薬剤を種々の濃度に調製し、先のペトリ皿に加え30分間培養し、リン酸緩衝液で洗浄した。2〜3分放置後 solid spot FICL-SK (halogen lamp 150W) 5分間 ($5.8mW/cm^2$) 光照射した。なお光照射は500nm以下の波長はカットした。

(90° - t - 90°)

パルス幅時間: 10sec

測定温度: 25℃ (室温)

各誘導体の緩和度は、濃度と直線関係にあったのでリン酸緩衝液の緩和度をブランクとして次式に従い緩和度を算出した。

$$\text{緩和度} = \frac{1/T_1(S) - 1/T_1(R)}{C}$$

$T_1(S)$: 誘導体が存在する時の緩和速度

$T_1(R)$: 誘導体が存在しない時の緩和速度

C : 誘導体の濃度 (mM)

各薬剤の *in vitro* 中における T_1 、緩和時間および緩和度を表1に示す。

以上の結果 Mn ポルフィリン誘導体は緩和度が高くMRI造影剤として有用であると思われた。

実施例 4

光照射による光毒性の判定 (*in vitro*)

特願 H2-080791号に掲げた方法により試験を行った。

HGC-27細胞 1×10^4 個 (1ml) を

その後、48時間培養し、生存細胞数を計測した。一方、対照として光照射中アルミホイルにて光を遮断した群を設けた。光細胞破壊効果は ID_{50} (50%細胞増殖阻害率) により求めた。図3に $C_6-Mn-DP-diAsp(41)$ 、 $C_6-Ga-DP-diAsp(131)$ および $C_6-DP-diAsp(133)$ による細胞増殖阻害率のグラフを示す。図から明らかなように Mn 誘導体である $C_6-Mn-DP-diAsp(41)$ は他の群と比較して光毒性がないことを示している。

実施例 5

$C_{10}(trans)-Mn-DP-diAsp$

(82) 注射剤の調製

$C_{10}(trans)-Mn-DP-diAsp$

(82) 5gにリン酸緩衝液 (pH8.0) 90mlを加えて溶解し、ついでpH調整のため $0.1N NaOH 10ml$ を加えて全量を $100ml$ ($50mg/ml$, pH7.3) とした。次いで無菌濾過を行いながら無菌バイアルに

5 ml ずつ分注し、MRI造影剤とした。さらに必要に応じ分注後、使用時まで凍結保存した。

実施例 8

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

(82) 注射液のTLCおよびHPLCにおける純度

実施例 5で得られたC₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (82) 注射液の濃度をオクタシリカゲル(C₁₈)薄層板(RP-8, メルク社製)上、メタノール-水混液(95:5)を用いて展開した。その結果R_f 0.6付近にのみスポットを認めた。さらに、HPLC分析[カラム: ワコーシル5C(8) 4.0×150mm, 溶離液: メタノール: 水: 酢酸(87.5:7.5:5), 流速: 1ml/min, 検出波長: 370nm]を行ったところ、R_t 4.6分に1本のピークを認め純度は98.5%以上であった。

実施例 7

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (82) 注射液の血漿中での純度を経時的にTLC分析およびHPLC分析することにより本薬剤の疑似*in vivo*中での安定性を評価した。

実施例 5と同様に調製したC₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (82) 注射液を生理的食塩水で2.5倍に希釈し20mg/mlの濃度とし、これと同量の新鮮凍結血漿を加えて(10mg/ml, pH7.1)、体温(36.5℃)、遮光下に静置し、本剤調製時、1日、1週間、2週間、および3週間後に実施例 6に準じて、本剤のTLCおよびHPLC純度を測定した。

その結果、各測定時点での本薬剤の化学的純度はTLC分析では1スポット、HPLC分析では約98.5%であり本薬剤は少なくとも3週間安定であることが分かった。

実施例 9

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

(82) の拒絶動物実験

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

(82) 注射液の*in vitro*中での安定性

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

(82) 注射液の純度を経時的にTLCおよびHPLC分析することにより本薬剤の*in vitro*中での安定性を評価した。

実施例 5に従って調製したC₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (82) 注射液を生理的食塩水で5倍に希釈し10mg/mlの濃度とし、遮光下に静置し、本剤調製時、1日、1週間、1か月、および1か年後に実施例 6に準じて、本剤のTLCおよびHPLC純度を測定した。

その結果、各測定時点での本薬剤の化学的純度はTLC分析では1スポット、HPLC分析では約98.5%であり本薬剤は少なくとも1か年安定であることが分かった。

実施例 8

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

(82) 注射液の新鮮凍結血漿(*in vivo*)中での安定性

(82) の人乳癌移植SHRラットにおけるMRI造影効果を検討した。

C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

(82) 注射液(投与量75mg/kg)を人乳癌移植SHRラットに静注し、6時間後にMRI撮像した。本薬剤投与による撮像結果から、腫瘍が明瞭に描画することが分かった。そのMRI画像を第4図および第5図に示す。

実施例 10

試験群[C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (41) およびC₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (82)]ならびに対照群(薬剤非投与, Mn-TPPS)の拒絶動物実験

試験群[C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (41) およびC₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (82)]ならびに対照群(薬剤非投与, Mn-TPPS)のコロン26(大腸癌)移植マウスにおけるMRI造影効果を検討した。

試験群[C₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp (41) およびC₁₂(*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*,*trans*)-Mn-DP-diAsp

Asp (82)] ならびに対照群 (高剤非投与、Mn-TPPS) 注射液 (投与量 50 mg/kg) をコロシ 26 (大腸癌) 移植マウスに静注し、3 時間後に MRI 撮像した。高剤投与による撮像結果から、試験群 [C₁₂-Mn-DP-diAsp (41) および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (82)] は対照群には見られない明瞭な腫瘍撮像を示していた。その MRI 撮像を第 6 図に示す。

実施例 11

試験群 [EG-Mn-DP-diAsp (22)]、C₁₂-Mn-DP-diAsp (38) および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (73)] ならびに対照群 (高剤非投与、Mn-TPPS) の担体動物実験

試験群 [EG-Mn-DP-diAsp (22)]、C₁₂-Mn-DP-diAsp (38) および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (73)] ならびに対照群 (高剤非投与、Mn-TPPS) のコロシ 26 (大腸癌) 移植マウスにおける MRI 造

影効果を検討した。

試験群 [C₁₂-Mn-DP-diAsp (73)] および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (82)] ならびに対照群 (高剤非投与) 各注射液 (投与量 10 mg/kg) を人乳癌移植 SHR ラットに静注し、6 時間後および 24 時間後に MRI 撮像した。(ただしこの撮像に際しては腫瘍制限撮像処理を施した。) 高剤投与による撮像結果から、試験群特に C₁₂-Mn-DP-diAsp (73) は明瞭な腫瘍撮像を示していたが高剤無投与では腫瘍撮像が出来なかった。その MRI 撮像を第 9 図および第 10 図に示す。

(ト) 発明の効果

本発明のボルフィリン誘導体 (1) は in vitro および in vivo において安定な化合物であり容易に調製することができる。該ボルフィリン誘導体は癌細胞への集積性を有し、しかも正常細胞に対して毒性を発現することがなく、緩和度が高いので MRI 造影剤に理想的な誘導体である。また、

影効果を検討した。

試験群 [EG-Mn-DP-diAsp (22)]、C₁₂-Mn-DP-diAsp (38) および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (73)] ならびに対照群 (高剤非投与、Mn-TPPS) 各注射液 (投与量 30 mg/kg) をコロシ 26 (大腸癌) 移植マウスに静注し、5 時間後に MRI 撮像した。高剤投与による撮像結果から、試験群特に C₁₂-Mn-DP-diAsp (73) は明瞭な腫瘍撮像を示していたが対照群では腫瘍撮像が出来なかった。その MRI 撮像を第 7 図および第 8 図に示す。

実施例 12

試験群 [C₁₂-Mn-DP-diAsp (73)] および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (82)] ならびに対照群 (高剤非投与) の担体動物実験

試験群 [C₁₂-Mn-DP-diAsp (73)] および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (82)] ならびに対照群 (高剤非投与)

癌の病態を投与後僅かな時間で鮮明にかつ迅速に検査できる。

このような特性に鑑み、該ボルフィリン誘導体は MRI 造影および各種腫瘍の診断剤としてきわめて有用である。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図および第 2 図は C₁₂-Mn-DP-diAsp (43) および C₁₂.....-Mn-DP-diAsp (51) の二次イオン質量スペクトルをそれぞれ示す。

第 3 図は次の各種薬剤投与後の細胞増殖阻害率を示す。

●: C₁₂-Mn-DP-diAsp (41)

光照射無し

○: C₁₂-Mn-DP-diAsp (41)

光照射有り

▲: C₁₂-Ga-DP-diAsp (131)

光照射無し

△: C₁₂-Ga-DP-diAsp (131)

光照射有り

■ : C₁₈-DP-diAsp (133)

光照射無し

□ : C₁₈-DP-diAsp (133)

光照射有り

第4図および第5図はC₁₈-Mn-DP-diAsp (82) 投与8時間後の人乳癌移植SHRラットにおけるMRI画像の写真。

第6図は左側から薬剤非投与、C₁₈-Mn-DP-diAsp (41)、C₁₈-Mn-DP-diAsp (82) およびMn-TPPSの投与3時間後のコロン26 (大腸癌) 移植マウスのMRI画像の写真。

第7図は左側から薬剤非投与、C₁₈-Mn-DP-diAsp (73)、EG-Mn-DP-diAsp (22)、C₁₈-Mn-DP-diAsp (38)、Gd-ATN-10およびMn-TPPS投与5時間後のコロン26 (大腸癌) 移植マウスのMRI画像の写真。

第8図はC₁₈-Mn-DP-diAsp (73) 投与5時間後のコロン26 (大腸癌) 移植マウ

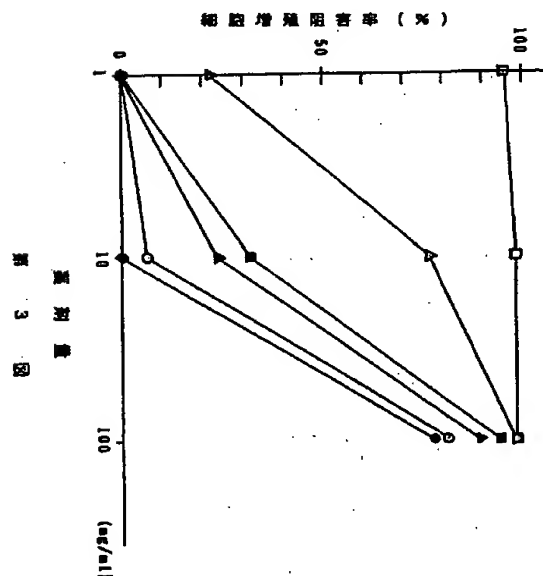
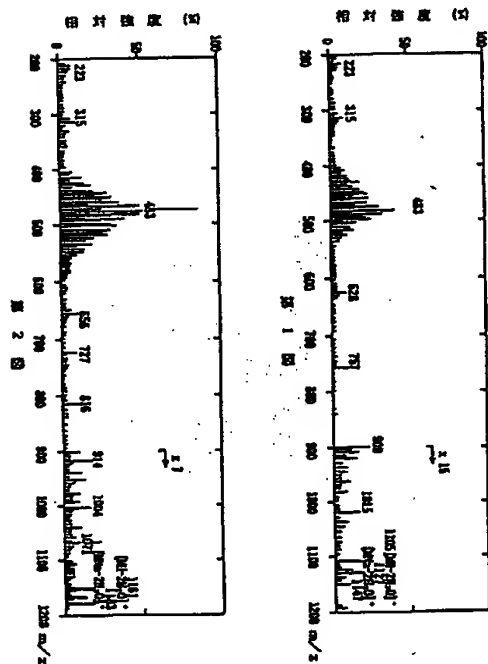
スのMRI画像の写真。

第9図は上段からC₁₈-Mn-DP-diAsp (73) 投与6時間後、投与24時間後および薬剤非投与の人乳癌移植SHRラットにおけるMRI画像の写真。

第10図は上段からC₁₈-Mn-DP-diAsp (82) 投与6時間後、投与24時間後および薬剤非投与の人乳癌移植SHRラットにおけるMRI画像の写真をそれぞれ示す (矢印の部分が腫瘍である)。

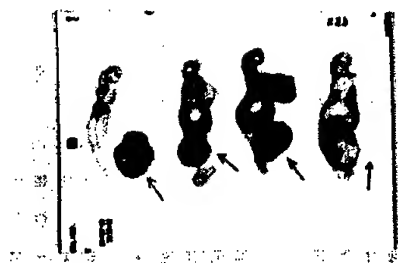
特許出願人 東洋海荷工業株式会社

代理人 弁理士 高橋 三郎





第 4 図



第 6 図



第 5 図



第 7 図



第 8 図



第 9 図



第 10 図

手続補正書(方式)

平成2年10月23日

特許庁長官 植 松 敏 殿

1. 事件の表示 平成2年特許願第168499号
2. 発明の名称 ポルフィリン誘導体とその用途
3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人

住 所 岡山県浅口郡里庄町大字浜中
75番地の1

名 称 東洋薄荷工業株式会社

代表取締役 東 山 龍 雄

4. 代理人 弁 士

住 所 東京都千代田区丸の内2-4-1
丸ビル654区 電話 03(281) 0075

氏 名 弁 士 高 橋 三 郎

方式 審 査 (33)

特許庁
2.10.23

5. 補正命令の日付

平成2年9月10日(発送日平成2年9月25日)

6. 補正の対象

明細書の図面の簡単な説明の欄

7. 補正の内容

明細書の図面の簡単な説明の中

(a) 55頁7行目の17字目と18字目との間に

(b) 55頁12行目の11字目と12字目との間に

(c) 55頁18行目の11字目と12字目との間に

(d) 56頁1行目の7字目と8字目との間に

(e) 56頁5行目の6字目と7字目との間に

(f) 56頁9行目の12字目と13字目との間にそれぞれ「による生物の形態について」なる文字を挿入する。

以上

(54) PORPHYRIN DERIVATIVE AND USE THEREOF

(11) 4-59779 (A) (43) 26.2.1992 (19) JP

(21) Appl. No. 2-168499 (22) 28.6.1990

(71) TOUYOU HATSUKA KOGIYOU K.K. (72) ISAO SAKATA(4)

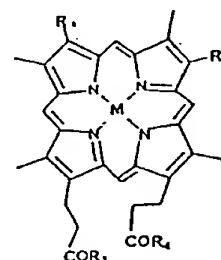
(51) Int. Cl.⁵ C07D487/22, A61K49/00

NEW MATERIAL: A metal porphyrin compound of the formula (R) and R₂ are each -CH=CH₂, -CH(OR)_nCH₂, or -CH(O-(lower alkylene-O)_nR)_nCH₂; R₃ and R₄ are each -OH or residue formed by eliminating H from polyfunctional compound; n is 1 or 2; R is H, alkyl, alkenyl, perfluoroalkyl or residue formed by eliminating OH from cyclic or polyfunctional compound; M is metal).

EXAMPLE: 2,4-Bis(1-dodecyloxyethyl)-Mn-deuteroporphynyl diaspertate.

USE: A contrast medium for nuclear magnetic resonance, a diagnostic agent for nuclear magnetic resonance.

PREPARATION: For example, a porphyrin compound having R₁ or R₂ corresponding to the formula is prepared, and a metal is introduced into this compound, and residues of a polyfunctional compound (e.g. amino acid) are bound to the R₃ and R₄ of the resulting metal porphyrin compound, thus obtaining the objective porphyrin derivative of the formula.

**(54) PORPHYRIN COMPOUND**

(11) 4-59780 (A) (43) 26.2.1992 (19) JP

(21) Appl. No. 2-169329 (22) 27.6.1990

(71) RICOH CO LTD (72) NAGAO KOBAYASHI

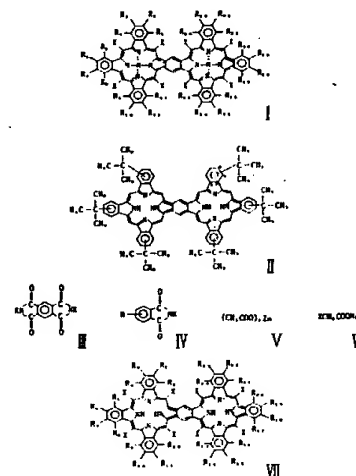
(51) Int. Cl.⁵ C07D487/22, B41M5/26, G03G5/06, H01L29/28, H01L31/04

NEW MATERIAL: A compound of formula I (R₁-R₂, are each H, alkyl, alkoxy, halogen, nitro, amino, aromatic hydrocarbon or heterocycle; X is H, alkyl, aromatic hydrocarbon or heterocycle; M is H, metal, metal oxide or metal halide).

EXAMPLE: A compound of formula II.

USE: A dye, catalyst, electrophotographic sensitizer, photoelectric conversion element, optical recording medium, etc.

PREPARATION: For example, a reaction is made between compounds of formulas III, IV, V, and VI, respectively, into a compound of the formula I (where, M is Zn). Thence, this compound is put to Zn elimination into a new intermediate of formula VII, and a metal is then introduced into this intermediate, thus obtaining the objective compound of the formula I.

**(54) CEPHALOSPORIN DERIVATIVE**

(11) 4-59781 (A) (43) 26.2.1992 (19) JP

(21) Appl. No. 2-171981 (22) 28.6.1990

(71) OTSUKA PHARMACEUT CO LTD (72) HIROSHI ISHIKAWA(6)

(51) Int. Cl.⁵ C07D501/36, A61K31/545, A61K31/55, C07D513/04

NEW MATERIAL: A compound of formula I (X and Y are such that one of them is methylene, the other being S; Z is alkylene; R¹ is heterocyclic thiomethyl having 1-4 heteroatom(s) (N or S) (heterocyclic fragment may have alkyl, carboxyalkyl, carboxy or OH); R² is carboxyl or carboxylate) or its salt.

EXAMPLE: (6S,7S)-7-((Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(1,5-dihydroxy-4-pyridon-2-ylmethoxyimino)acetamido)-3-(5-carboxymethyl-4-methylthiazol-2-ylthiomethyl)-isocephem-4-carboxylic acid.

USE: An antifungal agent.

PREPARATION: For example, one of compounds of formula IV including the objective compound of the formula I can be obtained by reaction between an amino compound of formula II (R³ is H or ester residue) and a carboxylic acid compound of formula III (R⁴ and R⁵ are each R³).

